

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی قزوین

دانشکده پیراپزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

عنوان:

" بررسی اثر داروی پارتنولاید در تکثیر و بقای لوکمی حاد لنفوسیت T از طریق ارزیابی

بیان ژن اوستئوپنتین "

استاد راهنما:

دکتر مهدی زاهدپناه - دکتر مهدی سهمانی

استاد مشاور:

دکتر محسن نیکبخت - دکتر سعید محمدی

نگارش:

سارامهری سوخته کوهی

خلاصه فارسی

مقدمه: لوکمی حاد لنفوئیدی (ALL) نوعی بدخیمی بافت خون ساز بدن است که در آن تعداد زیادی از لنفوسیت های تکامل نیافته، دچار اختلال شده و تعداد آنها در خون محیطی و مغز استخوان افزایش می یابد. درمان هدفمند از طریق مداخله در مسیرهای ملکولی به مرگ سلول سرطانی منجر می شود اما متأسفانه اغلب بیماران با بهبودی کامل، طول عمر کوتاهی دارند و میزان بقای کلی آنها فقط ۳۰ تا ۴۰ درصد است. پارتنولاید (PTL)^۱ از طریق طیف وسیعی از پاسخ ها، مانند مهار NF-kB، فعال سازی P53 و افزایش واکنش پذیری گونه های اکسیژن آپوپتوز رافعال می کند. اوستئوپونتین (OPN)^۲ در تنظیم سیگنالینگ سلولی و کنترل تغییرات نئوپلاستی و بدخیم، مشارکت محوری دارد و در ایجاد مقاومت دارویی نسبت به عوامل ضد سرطانی موثر است. نقش ایزوفرما های مختلف اوستئوپونتین در بسیاری از سرطان ها به اثبات رسیده است. **هدف:** در مطالعه حاضر قابلیت زیستی و بقای رده سلولی لوکمی لنفوئیدی حاد (jurkat) در تیمار با پارتنولاید ارزیابی گردید و برخی تغییرات ملکولی موثر در مقاومت سلولی، بررسی شدند. **مواد و روش ها:** سلول های لنفوئیدی حاد لوکمی انسانی با پارتنولاید تیمار شدند؛ سپس با استفاده از تست MTT، قابلیت زیستی و بقای سلول های سرطانی ارزیابی شد. با توجه به نقش مقاومتی اوستئوپونتین، از کیت siRNA و تکنیک ترانسفکشن برای جلوگیری از بیان اوستئوپونتین استفاده شد. رنگ آمیزی AV/PI برای تعیین نوع مرگ سلولی القا شده انجام گردید. نسخه برداری از ژن و بیان پروتئین اوستئوپونتین توسط تکنیک qRT-PCR اندازه گیری شد. **یافته ها:** پارتنولاید نقش مهمی در القای آپوپتوز و مهار رشد در سلول های لوکمی لنفوئیدی حاد نشان داد و بیان اوستئوپونتین را در این سلول ها کاهش داد اما کاهش بیان اوستئوپونتین، تاثیر چندانی بر اثرات سایتوتوکسیک پارتنولاید بر روی سلولها نداشت.

نتیجه گیری: پارتنولاید باعث القای آپوپتوز و کاهش بیان اوستئوپونتین در سلول های لوکمی حاد لنفوسیت T میشود، اما کاهش بیان اوستئوپونتین، تاثیری بر قابلیت زیستی و درصد آپوپتوز سلولها ندارد.

واژگان کلیدی: لوکمی لنفوئیدی حاد، پارتنولاید، اوستئوپونتین، Jurkat

¹ Parthenolide

² Osteopontin

Osteopontin does not play a role in resistance to toxic effects of parthenolide in acute T cell leukemia

Abstract:

Background: Osteopontin plays critical role in drug resistance in hematological malignancies. The oncogenic roles of OPN may be regulated by different OPN isoforms.

In T-cell acute lymphoblastic leukemia, most initial therapies can induce remission while some patients then relapse. Parthenolide can induce apoptosis in a variety of cancer cell lines.

Methods: jurkat cells were cultured in RPMI 1640 with concentrations of 8, 10, 12, 15, and 20 μm PTL for 48hours for MTT assays. We used OPN sirna as an inhibitor on the cell proliferation. Apoptosis assays were performed with Annexin V-Alexa Fluor-488/PI.

Quantitative real-time PCR was used to measure OPN gene expression using the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method.

Results: According to MTT analyses, parthenolide has cytotoxic effect on jurkat cells with IC_{50} values of 16.1 μm , and growth inhibition effect of PTL does not differ significantly in combination with OPN-siRNA.

Flow cytometry showed that death induction with PTL was apoptotic and a decreasing in the percentage of alive cells but did not show a significant difference in OPN-siRNA mediated group. In addition, OPN gene expression is not affected by PTL.

Conclusions: PTL induced apoptosis in jurkat cells, but inhibition of OPN gene expression with siRNA, doesn't affect on percentage of apoptotic cells.